

Patent publication number: JP S43-25506 (Published on 1968-11-004)

Preparation methods of low Fatty acid esters of riboflavin

Patent application number: JP S40-56913

Patent application date: 1965-09-16

Inventor and address: Yamabe, Shigeru, 1-36, Sone-cho East, Toyonaka, Japan
Terayama, Hiroshi, 155, Tamagawa-cho Seta, Setagaya-ku, Tokyo, Japan

Applicant and address: Sumitomo Chemical Co., Ltd., 5-15, Kitahama, Higashi-ku,
Osaka, Japan

Administrator: Hasegawa Norishige

Patent Attorney: Urasawa Yukio

Brief illustration by figures

Figure 1(a), IR spectrum of riboflavin. Figure 1(b), IR spectrum of riboflavin tri laurate in example 1. Figure 2, IR spectrum of riboflavin triisovalerate in example 2.

Detailed description of the invention

The present invention is about the esterification reaction to induce 1-3 fatty acids to riboflavin of its ribose alcohol moiety, Generating the high fat-soluble vitamin of the riboflavin. Such esters can be dissolved by butter, olive oil and other fats, or wrapped in rice and other methods for making the fortified foods, also can be added to the beauty cream for high skin absorption characteristics. For these different purposes, the esterification reaction fatty acids have more than 3 carbon atoms, that also comprise the branched-chain fatty acids, such as butyricum, isovaleric acid, lauric acid, stearic acid, oleic acid, palmitic acid, et al.

The process of preparation is that, the corresponding fatty acid halides (especially chloride) combined with riboflavin at less than the ratio of 3:1; alkaline solution as the reaction solvent; then separate and refine the generated esters by the column chromatography or centrifugal separation method. Compared with previous methods, the use of alkaline solution as reaction solvent has the advantages that, by the proper selection of the reaction conditions, high yield (80-90%) to obtain any kind of the monoester, diester, triester. Compared with the tetraesters, these low fatty esters show excellent lipophilicity, and riboflavin content is high in these esters, and these

esters are very easy to hydrolysis to riboflavin catalyzed by lipase, these advantages have a good practicability.

Specifically speaking, reaction using riboflavin monolaurate, dilaurate, trilaurate as substrate in phosphate buffer solution (pH7.0), hydrolyzed by pancreas lipase under 37°C for 90 mins yields the following result. The result demonstrated its excellent utility.

Substrates	Hydrolysis rates(%)	Nutritional effect of vitamin B2(The growth and development of rats)
Riboflavin monolaurate	45	+++
Riboflavin dilaurate	30	+++
Riboflavin trilaurate	27	+++
The control group		+++

(The rats were fed fully for two weeks.)

In addition, the fact was confirmed further that the product of our invention is its corresponding lower fatty acid ester by elemental analysis, visible absorption spectroscopy, infrared absorption spectroscopy etc.

The following examples illustrate the invention in detail.

Example 1

Lauric chloride (21.8 g, 0.1mol) and 15 ml aqueous solutions containing 7.3 g(0.11mol) 85% KOH(or NaOH) were added dropwise into an ice-cooled and stirring suspension of 3.76 g (0.01mol) riboflavine in H₂O for 30-60 min. The mixture stirred an additional 30 min, then centrifuged or filtered to get yellowish Solid. The crude was extracted by hydrophobic solvents such as Chloroform or toluene. Likewise, mother liquor was extracted directly, not centrifuged or filtered. After adding sodium bicarbonate and water in this organic solvent, sloshed in the separating funnel, fully cleaned. The organic solvent was distilled off under vacuum. A oily or solid form of riboflavin laurate is obtained. The total rate of recovery is up to 90%.

The product was dissolved by petroleum ether or gasoline and purified by silica gel column chromatography, eluted by ethyl ether : petroleum ether(1:1) or more large amount of ethyl ether. A orange yellow crystal was obtained after remove the solvents by distilling in low pressure.

The crystal is very stable at room temperature, which is undissolvable in water, but can be readily dissolved in various organic solvents and oils, The solution shows yellow green fluorescence. Its melting point and elemental analysis results are shown in Table 1. From the elemental analysis data shows the crystal is a riboflavin molecule contained three esters of the three lauric acid molecules.

Table 1

compounds	melting point	elemental analysis data (%)			
			C	H	N
Riboflavin	288.5~292.5°C	theoretical value	54.26	5.32	14.89
		measured value	54.58	5.21	14.75
Riboflavin trilaurate	127.5~144.5°C	theoretical value	68.98	9.33	6.07
		measured value	67.33	9.18	6.03

The visible absorption spectrum of the crystal in olive is similar to the Riboflavin's aqueous solution, its maximum wavelength of absorption wave is 440m μ , which is slightly shorter than the riboflavin's(445m μ). In addition, the results of IR were shown in Figure 1 (b). Compared with the IR(KBr disk) of Riboflavin which was shown in Figure 1 (a), all the finger-print region of the absorption band are very similar, thus show that isoalloxazine ring was saved by the ester bond. And only the 3.5m μ absorption band formed by Paraffin chain in Figure 1 (b) can be seen, shows that fatty acids was induced in the crystal.

Example 2

3.8g of riboflavin was suspended in 50ml H₂O , and slowly added12.1g isovalericacid chloride and KOH6.1 g / 15ml H₂O dropwise under ice-cooled environment. After the reaction complete, the reaction mixture was extracted with toluene, the toluene layer was fully washed by water, then remove the toluene by low

pressure distillation under 40°C. The oily residue was dissolved in petroleum benzene, then implement Silica gel column chromatography. The next step was the same with example 1, remove the solvent by Evaporation to get 1.2 g orange oily riboflavin ester.

The elemental analysis values of Table 2 show that the product is the ester of riboflavin molecule combined with three-isovalerate.

Table 2

Compound	Elemental analysis values (%)			
		C	H	N
riboflavin triisovalerate	Theoretical value	61.15	7.01	8.92
	Measured value	59.81	7.15	7.91

In addition, the IR spectrum (solvent, paraffin oil) of the product is shown in Figure 2.

Claim:

1. The methods of preparing low fatty acid esters of riboflavin: Using fatty acid halides react with riboflavin in alkaline solution, esterified riboflavin ribose moiety to monoester, diester, triester, said fatty acid halides have more than three carbon atoms with straight or branched chain.

Figure 1 (a) riboflavin

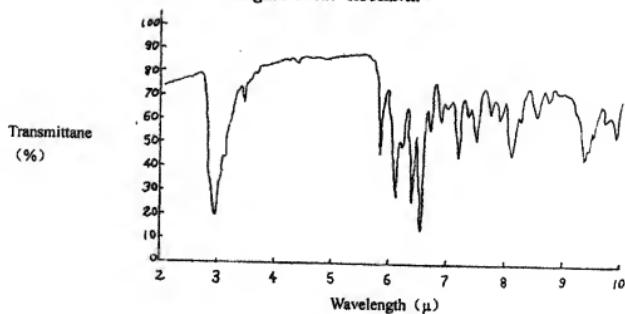


Figure 1 (b) Riboflavin triaurate

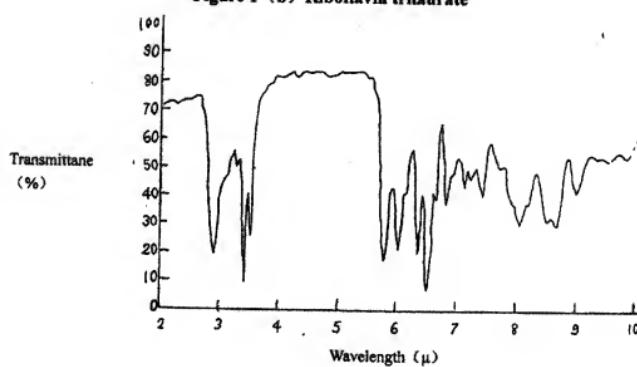
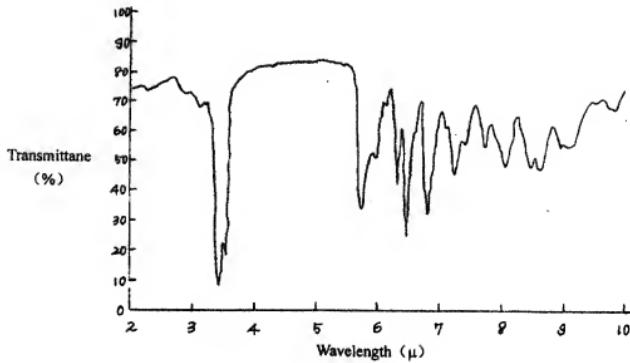


Figure 2 riboflavin trisovalerate



Translated by 深圳市科吉有限公司 知识产权事务所



リボフラビン脂肪酸オリゴエステルの製法

特願 国 40-56913
出願日 昭 40. 9. 16
発明者 山田茂
兵庫県尼崎市東町1の36
同 寺山宏
東京都墨田区玉川瀬田町1 55
出願人 住友化学工業株式会社
大阪府東北浜5の15
代表者 長谷川勝重
代理人 伊藤信一 武浦吉男

図面の簡単な説明

第1回はリボフラビンの赤外吸収スペクトルを表し、第2回は実施例1のリボフラビン・ワリン酸・トリエステルの赤外吸収スペクトルを表す。第3回は実施例2のリボフラビン・イソセクタノン酸・トリエステルの赤外吸収スペクトルを表したものである。

発明の詳細な説明

本発明は水溶性のビタミンB₆すなはちリボフラビンのナトリウム塩に1乃至3molの脂肪酸をエステル結合により導入し、それを脂溶性の高いビタミンに変化させる難法に関する。このエステルはペーパーオーブル油等の油類に導かたり、あるいは白米にコーティングしたりして強化食品にでき、また化粧用クリームに添加して皮膚からの吸収性を高める等の特徴を有する。かかる目的をもつてエステル結合される脂肪酸は炭素原子数3以上の脂肪酸で、親水性を有する脂肪酸も含まれ、例えば酢酸、イソ吉草酸、ワリシ酸、ステアリン酸、オレイン酸、バーミン酸等があげられる。

本難法は相当する脂肪酸のハロゲン化物、特にクロライドをリボフラビン1モルに対して3モル以下の結合で結合するよう使用すること、アルカリ性水溶液を反応容器にすることおよび生成したエステルをカラムクロマトグラフィーまたは過硫酸鉄によって分離精製することを特徴とする。アルカリ性水溶液を使用する有利な点は従来法に比し反応条件を通常に選択することによつて、モノエステル・ジエステル・トリエステルの中の任

意の分画が高い收率(80乃至90%)でえられるにある。これらのオリゴエステルはテトラエチルに比して、充分に脂溶性であると共にリボフラビン含量の高いこと、リバーゼで加水分解され活性リボフラビンを生じ易いこと等から实用上特にすぐれている。

すなはち具体的には、リボフラビン・ワリン酸モノエステル、ジエステル、トリエステルを基質とし、酵素として、パンクレアスリバーゼを用い、pH 7.0の緩衝液系振盪液を用いて、3.7Gで90分間加水分解試験を行つたところ下表のよう結果が得られ、そのすぐれた实用性が証明された。

基 質	加水分解速度 (%)	ビタミンB ₆ 共 同効果(ラクト 発育)
リボフラビン・ワ リン酸モノエ ステル	4.5	+++
リボフラビン・ワ リン酸ジエ ステル	9.0	+++
リボフラビン・ワ リン酸トリエ ステル	2.7	+++
コントロール + + +		

(ラットを2週間完全飼育)

なお、元素分析、可視吸収スペクトル、赤外吸収スペクトル等を測定し、本発明生成物が抱有する難法のオリゴエステル中の一分率であることを確認した。

次に実施例を示し本発明をさらに詳細に説明する。

実施例 1

リボフラビンの粉末3.76g(0.01モル)を過硫酸鉄に懸濁させ、冰冷下でよく攪拌しつゝ、これに8.5% KOH(またはNaOH) 7.3g(0.1モル)/1.5ml水およびラクリン酸クロライド2.18g(0.1モル)を徐々に加え、

くり滴下する。

30分乃至60分かけて全部を滴下し、さらに20分間搅拌をつづける。反応終了後、いつたん速別または過心分離して黄色固形物をえた。ついでクロロホルム、トルエン等の適性溶媒で抽出する。場合によつては、いつたん固形物を分離しないで、直ちに溶液で抽出してもよい。

有機溶媒を濾液酸ナトリウム水、ついで水で分離ロート中で振り、よく洗つてから溶液を被覆下で留めすれば、油状または固形のリボフラビンラウリン酸エスチルが得られる。収量は90%である。

これをさらに精製するには、石油エーテルかまたは石油ベンジンに溶かして、シリカゲルカラムクロマトグラフィーを行い、石油エーテル+エーテル(1:1の分量比)またはエーテルの分量を大きくした浴槽で導出する。浴槽を被覆下で留めすれば赤黄色結晶を得る。

本品は室温で極めて安定であり、水に不溶。各種の有機溶媒および油性物によく溶けて黄緑色のケイ光を示す。本品の融点および元素分析値は第1表の通りである。元素分析値から本品はリボフラビン1分子に対してラウリン酸3分子を含むトリエスチルであることがわかる。

第 1 表

化 合 物	融 点	元 素 分 析 値 (%)		
		C	H	N
リボフラビン	288.5~	理論値	54.26	5.32
	292.5℃	実測値	54.58	5.21
リボラビンラウリン酸	127.5~	理論値	68.98	9.33
	144.5℃	実測値	67.33	9.18
トリエスチル				8.03

本品のオリーブ油中ににおける可視部吸収スペクトルはリボラビンの水溶液のものと相似するが、その吸収極大は440m μ にあつて、リボラビンの極445m μ より少しく短波長に位する。また本品の赤外部吸収スペクトル(KBr製剤法)は第1回目の通りである。第1回目リボラビンのスペクトルと比較して、いわゆる指紋領域の各吸収帯が極めて相似していることから、エスチル結合によつてイソアロキサザン様の保存されていることがわかる。また(b)のぶ認められ3.5μの吸收帯はリバフタイン酸によるものであり、脂肪酸が導入されていることを明示している。

実験例 2

④ リボラビン3.8gを50mlの水に溶解させ、氷冷下で攪拌しながらイソ吉草酸クロライド1.21gとKOH 6.1g/1.5ml水を少量ずつ滴下する。反応終了後、トルエンで抽出し、このトルエン層を水でよく洗つてから40℃以下でトルエンを被覆下で留めます。残留物の油状体を石油ベンジンに溶かし、シリカゲルカラムクロロトグラフィーを行つ。以下実験例1と同じようにして溶出液から溶液を蒸発させると、赤褐色の油状リボラビンエスチル1.2gを得る。

第2表に示す本品の元素分析値より、リボラビン1分子に対してイソ吉草酸3分子が結合したトリエスチルであることがわかる。

第 2 表

化 合 物	元 素 分 析 値 (%)		
	C	H	N
リボラビンイソ吉草酸トリエスチル	理論値	61.15	7.01
	実測値	59.81	7.15
			7.91

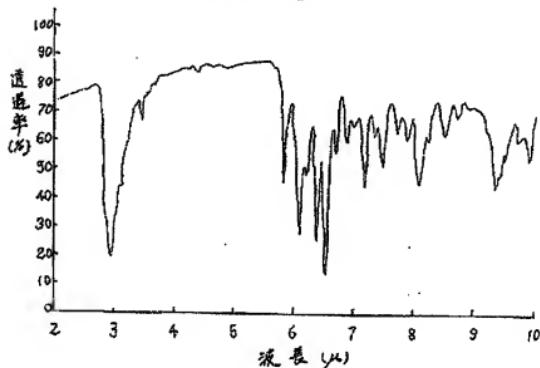
なお本品の赤外線吸収スペクトル(液塩バラフィン油)を示せば第2図の通りである。

特許請求の範囲

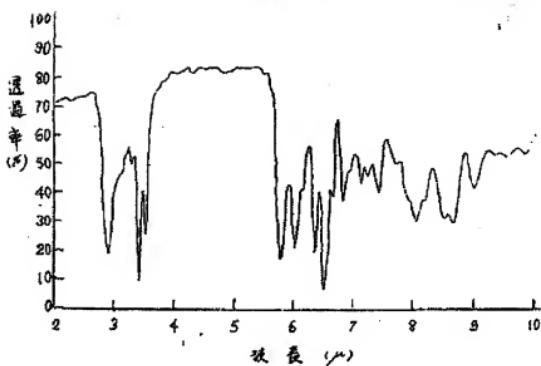
- 直鎖状または環状を有する炭素原子数3以上
の脂肪酸のハロゲン化物を、リポフラビンとアル

カリ性水溶液で反応させ、リポフラビンのリピタル基をモノエステル、ジエスチルまたはトリエスチル化することを特徴とするリポフラビン脂肪酸エリゴエスチルの製法。

第2図 (a) リポフラビン



第1図 (b) リボフラビンラウリン酸トリエスチル



第2図 リボフラビンイソラウリン酸トリエスチル

